动 物 学 研 究 2003, Feb. 24 (1): 27 ~ 33 CN 53 - 1040/Q ISSN 0254 - 5853
Zoological Research

研究报告

从 Cyt *b* 基因序列探讨鹿亚科动物的系统发生关系

刘向华，王义权[1]，刘忠权，周开亚
（南京师范大学 遗传资源研究所，江苏 南京 210097）

摘要： 鹿亚科共有 4 个属，各属间和属内特别是鹿属内的系统进化关系存在疑义。根据 Cyt *b* 基因序列分析，探讨了鹿亚科及中国鹿属、马鹿亚种的进化关系。结果分析表明：现行分类系统中，斑鹿属可能并非单系发生，暗示应将豚鹿并入鹿属；麋鹿属与鹿属有较近的进化关系，也应并入鹿属；黇鹿属的进化地位有待进一步研究；归并后的鹿属为单系发生。中国马鹿各亚种在系统发生上是一单系群，其中马鹿天山亚种和阿尔泰亚种聚为最原始的一支。

关键词： 鹿亚科；Cyt *b* 基因；系统发生关系
中图分类号： 959.842；Q951.3；Q75 **文献标识码：** A **文章编号：** 0254 - 5853(2003)01 - 0027 - 07

Phylogenetic Relationships of Cervinae Based on Sequence of Mitochondrial Cytochrome *b* Gene

LIU Xiang-hua, WANG Yi-quan, LIU Zhong-quan, Zhou Kai-ya
(*Institute of Genetic Resources, Nanjing Normal University, Nanjing* 210097, *China*)

Abstract: The phylogenetic relationships among and within genera *Dama*, *Axis*, *Elaphurus*, and *Cervus* in subfamily Cervinae remain controversial, particularly within genus *Cervus*. We analyzed the sequence of Cyt *b* gene of the genera, 5 species of *Cervus*, and 6 subspecies of *C. elaphus* distributing in China. The results suggest that: Genus *Axis* might not be monophyletic and *A. porcinus* should be merged into *Cervus*. A close genetic relationship between *Elaphurus* and *Cervus* indicated that two taxa should be incorporated into the same genus, whereas the classification status of *Dama dama* still remained uncertain. *Cervus*, including Père David's deer and hog deer, comprised a monophyletic clade. Subspecies of China's *C. elaphus*, which derived from *C. nippon*, formed a monophyletic group. Among them, *C. e. songaricus* and *C. e. sibiricus* clustered together and diverged early.

Key words: Cervinae; Cyt *b* gene; Phylogenetic relationship

鹿亚科（Cervinae）动物主要分布在欧洲、亚洲和北美洲，共有 4 个属：黇鹿属（*Dama*）、斑鹿属（*Axis*）、麋鹿属（*Elaphurus*）和鹿属（*Cervus*）（Wang & Du，1988）。目前，对鹿亚科属间和属内的系统进化关系的看法存在分歧。古生物学的研究认为，鹿亚科在中新世早期（Early Miocene）从鹿科（Cervidae）总进化枝分化出来后，开始进一步的分化：最早分离出来的是麋鹿属的进化枝，化石资料证实现存麋鹿（*Elaphurus davidianus*）是这一属中高度特化的种类；其次分化出来的是斑鹿属进化枝；而黇鹿属一直到更新世（Pleistocene）才与鹿属进化枝分开，成为一个独立的属的进化枝（Flerov，1957）。Emerson & Tate（1993）用蛋白电泳分析了鹿亚科 4 个属 10 个种和亚种的进化关系，认为麋鹿属与鹿属关系较近，而鹿属中的水鹿（*C. unicolor*）与黇鹿属和斑鹿属的关系比其与鹿属其他种的关系更近。Sheng et al（1992）认为鹿类的化石记录虽能比较真实地显示生物的进化历史，

收稿日期：2002 - 05 - 27；接受日期：2002 - 11 - 18
基金项目：国家自然科学基金资助项目（39870913）；国家教育部骨干教师资助计划项目；江苏省“333 工程”人才培养基金资助
1. 通讯作者，工作单位：厦门大学生命科学学院，Tel：(0592) 2184427，Fax：(0592) 2181015，E-mail：yqw@pine.njnu.edu.cn

但是由于化石的分类基准大都是使用角或容易变异的骨的形态，可能会存在疑义。而 Emerson & Tate（1993）蛋白电泳研究的物种有限，因此有必要对鹿亚科的进化问题做进一步的研究。

中国是鹿属动物的进化舞台，各种及各亚种的发展进化遍布于整个中国（Ohtaishi，1992），因此对中国鹿属各种和亚种的系统进化研究有重要的理论意义。中国鹿属动物有 5 个种，即坡鹿（*C. eldi*）、水鹿（*C. unicolor*）、白唇鹿（*C. albirostris*）、梅花鹿（*C. nippon*）、马鹿（*C. elaphus*）。其中马鹿是最具有优势的种，对其亚种的系统进化研究是该属动物进化的重要组成部分。对中国鹿属系统进化关系的研究，目前主要依据宏观形态学（Ohtaishi，1992；Groves & Grubb，1987）和染色体学（Neitzel，1987；Wang & Du，1982）。但鹿类形态学研究所依据的角形和皮毛颜色容易受到趋同（convergence）或平行进化（parallel evolution）的影响（Emerson & Tate，1993），而单凭染色体研究来分析物种的亲缘关系也是不够的（Li et al，1999）。

分子系统学及 DNA 分子技术的快速发展，使从 DNA 水平研究鹿类物种亲缘关系成为可能。基于 mtDNA 的 D-loop 全序列分析，Randi et al（2001）探讨了鹿亚科、麂亚科 25 个种和亚种的系统发生关系。Li et al（1998，1999）用 Cyt *b* 基因片段分析了部分中国鹿属及马鹿亚种间的系统进化关系。mtDNA 上蛋白编码基因，特别是全长 Cyt *b* 基因被认为是偶蹄类进化时间在 20 Ma 之后的系统进化研究中最有力的依据（Randi et al，1998），其在分类和进化研究上有较强的适用性（Irwin et al，1991；Avise，1994）。我们对鹿亚科 4 个属 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列和全序列做了分析比较，结合前人在古生物学、核型和染色体分析、动物地理学等方面的研究，综合探讨了鹿亚科及分布在中国的鹿属及马鹿亚种的系统进化关系。

1 材料与方法

1.1 材 料

研究材料为坡鹿（产地：海南；组织：鹿角）、豚鹿（产地：云南；组织：鹿角）、麋鹿（产地不详；组织：鹿茸），并从 GenBank 下载了鹿亚科 4 个属及鼷鹿科（*Tragulidae*）大鼷鹿（*Tragulus napu*）共 15 个种和亚种的 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列及全序列（表 1）。

1.2 方 法

1.2.1 DNA 提取、扩增和序列测定 DNA 提取、扩增和序列测定参照 Zhou（2001）的方法进行，其中 Cyt *b* 基因区域扩增和测序所用引物见表 2。

1.2.2 DNA 序列分析 本研究所用的鹿亚科 14 个种和亚种共 22 个个体的 Cyt *b* 基因序列中，13 个种（缺少印度花鹿）14 个个体（白唇鹿有 2 个个体）为全序列（表 1）。为获得比较可靠的结果，我们对鹿亚科 Cyt *b* 基因的 5' 端部分序列以及全序列都进行了分析。

用 Clustal Ⅹ 1.8 软件（Thompson et al，1997）分别对鹿亚科 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列（22 个个体）及全序列（13 个个体，白唇鹿选 1 个个体）进行比对。用 MEGA2.1 软件（Kumar et al，2001）统计转换数和颠换数，分析各物种间的 DNA 序列差异，并基于 Kimura 双参数模型，用转换和颠换的信息，采用邻接法（neighbor-joining method，NJ）构建系统树。同时又分别用 PAUP3.1.1 软件包（Swofford，1993）中的最大简约法（maximum parismony method，MP），PHYLIP3.5 c 软件包（Felsenstein，1995）中的极大似然法（maximum likehood method，ML）进行系统进化树的重建。构建均以鼷鹿科大鼷鹿作外群，同时应用自举检验（bootstrap test）估计系统树中结点的自引导值（bootstrap value）。

2 结 果

2.1 Cyt *b* 基因的序列及差异

对 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列进行比对，得到同源序列 367 bp，其中有 111 个核苷酸变异位点，简约信息位点 59 个，无插入或缺失。基因序列差异百分比和碱基替代情况统计略。

对 Cyt *b* 基因全序列进行比对，得到同源序列 1 140 bp，其中有 340 个核苷酸变异位点，简约信息位点 134 个，无插入或缺失。基因序列差异百分比和碱基替代情况统计见表 3。作为外群的大鼷鹿和内群各种之间序列差异值为 18.42% ~ 19.83%，平均为 19.49%。内群中黇鹿与麋鹿差异值为 9.47%；与鹿属各种间为 9.65% ~ 11.32%，平均为 10.14%。麋鹿与鹿属各种间的序列差异值为 6.14 ~ 7.37%，平均为 6.76%。豚鹿与水鹿的序列差异值仅为 1.58%；与鹿属其他种的序列差异值为 5.09% ~ 6.93%，平均为 5.56%。鹿属内种间差异值为3.60% ~ 7.19%，平均为5.36%。其中

表 1　本研究所用物种一览表

Table 1　List of taxa used in this study

物种 Species	代码 Code	序列长度 Sequence length (bp)	登录号 Accession number
马鹿 *Cervus elaphus*			
东北亚种 *C. e. xanthopygus*	CExan	1 140[a]	AB021097
甘肃亚种 *C. e. kansuensis*	CEkan	1 140[a]	AY070223
阿尔泰亚种 *C. e. sibiricus*	CEsibi	1 140[a]	AY044862
西藏亚种 *C. e. wallichi*	CEwal	1 140[a]	AY044861
四川亚种 *C. e. macneilli*	CEmac	1 140[a]	AY035875
天山亚种 *C. e. songaricus*	CEson	1 140[a]	AY035871
四川梅花鹿 *C. n. sichuanicus*	CNsi	1 140[a]	AY035876
白唇鹿 *C. albirostris*	Calbi	1 140[a]	AY044863
	Calbi-1	1 140[a]	AF423202
水鹿 *C. unicolor*	Cuni	1 140[a]	AF423201
	Cuni-1	367[b]	AB019632
坡鹿 *C. eldi*	Celdi *	1 140[a]	AY157735
	Celdi-1	401[b]	L48352
	Celdi-2	401[b]	L48401
	Celdi-3	367[b]	AB019631
豚鹿 *Axis porcinus*	Apor	1 140[a]	AY035874
	Apor-1 *	401[b]	AY157734
印度花鹿 *A. axis*	Axis	401[b]	L48343
麋鹿 *Elaphurus davidianus*	Edavi	1 140[a]	AF423194
	Edavi-1 *	401[b]	AY158081
	Edavi-2	401[b]	L48349
黇鹿 *Dama dama*	Dama	1 140[a]	AJ000022
大鼷鹿 *Tragulus napu*	Tnapu	1 140[a]	X56288

* 本研究测序样品 (Samples sequenced in this study), [a] Cyt *b* 基因全序列 (Cytochrome *b* whole-sequence), [b] Cyt *b* 基因 5' 端部分序列 (Cytochrome *b* 5' partial-sequence)。

表 2　Cyt *b* 基因区域扩增和测序所用引物

Table 2　Primers for amplification and sequencing of Cyt *b* gene

Primer name	Sequence	Reference
L14724	5'-CGAGATCTGAAAAACCATCGTTG-3'	Irwin et al, 1991
H15149	5'-AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3'	Kocher et al, 1989
L15135	5'-TAGCCACAGCATTCGTAGG-3'	This study
H15577	5'-TTGATCGTAGGATTGCGTAT-3'	This study
L15532	5'-ACCCCAGCAAATCCACTC-3'	This study
H15992	5'-TAGAACTTCAGCTTTGGG-3'	This study

坡鹿和水鹿分别与鹿属其他种的序列差异值为 6.67% ~ 7.89% 和 4.91% ~ 6.93%，平均为 7.11% 和 5.40%。白唇鹿和四川梅花鹿分别与马鹿各亚种的序列差异值为 4.47% ~ 4.82% 和 3.60% ~ 3.95%，平均为 4.59% 和 3.80%。马鹿各亚种间差异值为 0.09% ~ 1.75%，平均为 1.18%。各物种间序列变异位点上转换明显多于颠换。

2.2　系统进化树

基于鹿亚科 14 个种和亚种 22 个个体的 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列以 NJ 法、MP 法和 ML 法构建系统进化树，NJ 树（图 1A）与 MP 树基本一致，但 ML 树与前两者在印度花鹿和麋鹿的聚类顺序不同；基于鹿亚科 13 个种和亚种 13 个个体的 Cyt *b* 基因全序列所构建的 NJ（图 1B）、MP 和 ML 系统进化树相同。将 14 个种和亚种 22 个个体的全部序列排在一起，对未测定部分的碱基采用 "?" 补起，所构建的 MP 树与依据 5' 端部分序列所构建的 NJ 和 MP 树差异不大。

3　讨　论

3.1　鹿亚科的系统进化关系

在由 Cyt *b* 基因 5' 端部分序列（14 个种 22 个个

表 3 鹿亚科 13 个种和亚种及大鼷鹿 Cyt *b* 基因全序列差异百分比（上三角）和转换数/颠换数（下三角）

Table 3 Percentage divergence (above diagonal) and numbers of transitions/tranvsersions (below diagonal) for whole cytochrome *b* sequences in 13 species and subspecies of Cervinae and *Tragulus napu*

Codes	Celdi	Edavi	CEwal	CEmac	CEkan	CExan	CEsibi	CEson	CNsi	Calbi	Apor	Cuni	Dama	Tnapu
Celdi		5.26	7.11	7.19	7.19	6.84	7.11	7.02	6.67	7.89	6.93	6.93	9.65	19.04
Edavi	57/3		6.84	6.93	6.93	6.14	6.58	6.67	7.19	7.37	5.88	6.23	9.47	18.42
CEwal	77/4	73/5		0.09	0.09	1.23	1.32	1.58	3.68	4.47	5.18	5.00	10.18	19.74
CEmac	77/5	73/6	0/1		0.18	1.32	1.40	1.67	3.77	4.56	5.26	4.91	10.26	19.83
CEkan	78/4	74/5	1/0	1/1		1.32	1.40	1.67	3.60	4.56	5.26	5.09	10.26	19.83
CExan	76/2	67/3	12/2	12/3	13/2		1.67	1.75	3.95	4.56	5.18	5.00	10.26	19.47
CEsibi	79/2	72/3	13/2	13/3	14/2	19/0		0.96	3.86	4.65	5.09	4.91	10.00	19.21
CEson	78/2	73/3	16/2	16/3	17/2	20/0	11/0		3.95	4.74	5.35	5.18	9.74	19.30
CNsi	72/4	77/5	38/4	38/5	37/4	43/2	42/2	43/2		4.82	5.70	5.53	9.74	19.83
Calbi	85/5	78/6	46/5	46/6	47/5	49/3	50/3	51/3	50/5		6.05	6.05	11.32	19.56
Apor	75/4	62/5	55/4	55/5	56/4	57/2	56/2	59/2	61/4	64/5		1.58	10.00	19.56
Cuni	73/6	64/7	51/6	51/5	52/6	53/4	52/4	55/4	57/6	62/7	16/2		10.09	19.74
Dama	101/9	98/10	105/11	105/12	106/11	108/9	105/9	102/9	100/11	117/12	103/11	102/13		19.83
Tnapu	131/86	123/87	141/84	141/85	142/84	138/84	135/84	136/84	140/86	136/87	137/86	137/88	135/91	

代码见表 1 (See Table 1 for explanation of the codes)。

体）和全序列（13 个种 13 个个体）重建的系统树中，鹿亚科四个属的进化关系存在一定分歧。

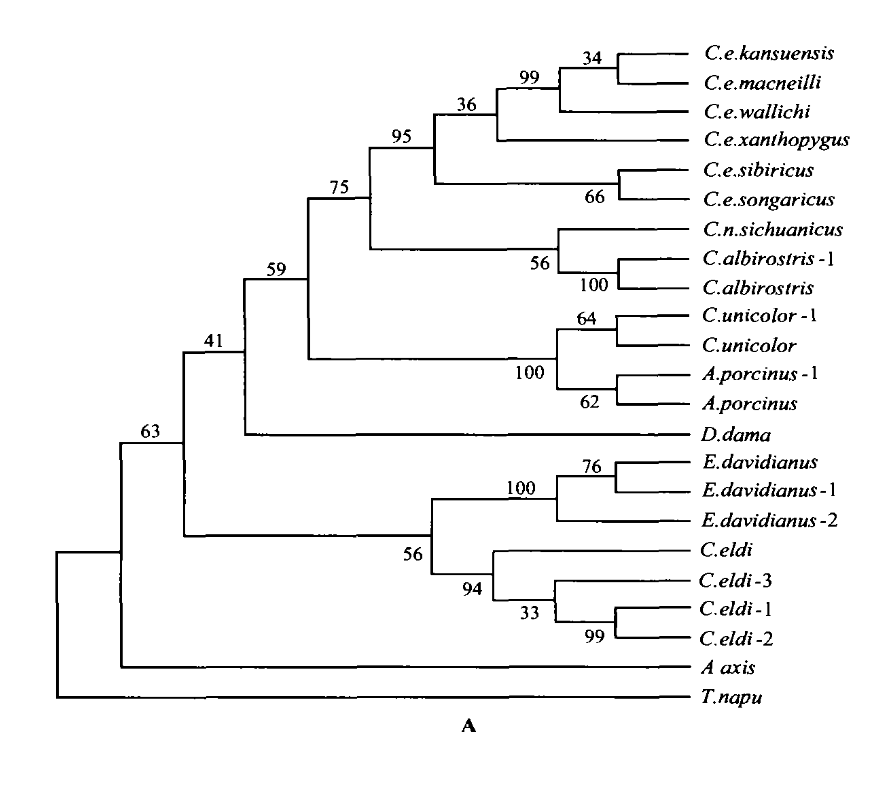
在现行分类系统中，斑鹿属包括印度花鹿和豚鹿两个种，由于它们的形态与鹿属动物很相似，早期的分类学家曾将其与鹿属合并，Wang & Du (1983) 通过染色体研究也支持这一观点。本文构建的 Cyt *b* 基因部分序列 NJ 树（图 1A）显示：斑鹿属并非是单系发生，其中印度花鹿位于系统树的基部，是鹿亚科中最先分化出来的一支；而豚鹿与水鹿聚为一单系支（自引导值为 100%），并作为鹿属其他种的姐妹群。这与本文根据 Cyt *b* 基因全序列重建的 NJ 树（图 1B）的结果一致，两者 Cyt *b* 全序列差异仅为 1.58%。因此，我们建议将斑鹿属中的豚鹿并入鹿属，至于斑鹿属中的印度花鹿在鹿亚科中的准确进化地位，有待更深入的研究。

古生物学研究认为麋鹿属是鹿亚科中最古老的一支，现存麋鹿是其高度特化的种类。但 Groves & Grubb（1987）的共源性状（synapomorphy）和 Neitzel（1987）的染色体核型研究结果均认为，麋鹿属和鹿属有较近的分类学关系；Emerson & Tate（1993）的蛋白电泳分析也得到同样结果，并认为麋鹿和其他鹿类角的形态特征的明显差异并非长时间进化分歧造成的。Randi et al（2001）基于 mtDNA 的 D-loop 全序列分析，首次提出将麋鹿并入鹿属，而本研究构建的两个系统树皆支持 Randi 的观点。根据表 3 的序列差异值及 Cyt *b* 基因每百万年 2.5%的进化速度（Meryer & Wilson，1990），可估计麋鹿与鹿属其他物种的分歧时间大约在 270 万年，这与麋鹿出现于更新世早期（Early Pleistocene）的观点一致。

黇鹿属仅有黇鹿一个种，古生物学（Flerov，1957）、染色体组型研究（Wang & Du，1983）和蛋白电泳研究（Emerson & Tate，1993）的结果皆认为黇鹿在进化过程中与鹿属的关系密切。在本研究中，黇鹿的进化地位在分别依据 Cyt *b* 基因部分序列和全序列重建的系统树中不一致：前者表明黇鹿是与鹿属关系很近的一个种（但自引导值仅为 41%）；而在后者中黇鹿处于系统树的根部（自引导值为 95%），是与鹿属关系相对较远的一个独立属。去除印度花鹿后重建的 Cyt *b* 基因部分序列的 NJ 树仍支持前者的观点，从而排除了印度花鹿序列数据对聚类树的拓扑结构的影响。由于截取 Cyt *b* 基因序列长度不同而得到不一致聚类结果的原因尚不知道，因此对黇鹿在鹿亚科动物中的进化地位的分析还需要更多的 DNA 信息资料。

3.2 中国鹿属动物的系统进化关系

Cronin（1991）对鹿亚科和美洲鹿亚科（Odocoileinae）部分种的进化关系做了 mtDNA 限制性位点图谱研究，认为鹿属并非单系发生。Emerson & Tate（1993）支持这一观点。但是，Randi et al（2001）根据 mtDNA 的 D-loop 全序列分析结果，即麋鹿聚于鹿属内，建议将麋鹿并入鹿属，从而形成鹿属的单系群。在图 1A 的 NJ 树中，鹿属中的坡鹿与麋鹿聚为一单系支，而由鹿属的其他种和亚种以及黇鹿组成另一单系支；两支合并组成姐妹群。图 1B的NJ树也有相近的结果，提示鹿属可能为单系



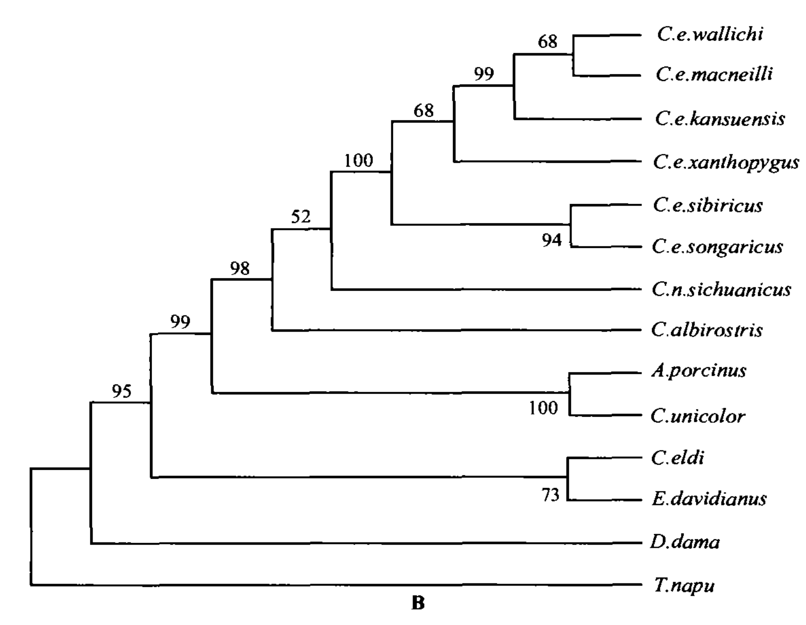


图 1　基于 Cyt *b* 基因序列构建的鹿亚科动物 NJ 系统进化树

Fig.1　Neighbor-joining trees based on the sequences of cytochrome *b* gene in Cervinae

A. Cyt *b* 基因 5' 端部分序列（Cytochrome *b* 5'partial-sequence），B. Cyt *b* 基因全序列（Cytochrome *b* whole-sequence）；图中数字为自引导值（复制数 1 000）［Numbers on the tree represent bootstrap value（1 000 replications）］。

发生。

中国鹿属的系统进化关系中，Wang & Du (1982) 认为现生中国鹿属动物中水鹿最原始，而白唇鹿与梅花鹿几乎同时从水鹿的祖先中分化而来，马鹿则最后从梅花鹿中分化出来。坡鹿和水鹿的染色体研究显示了其近缘关系，白唇鹿的染色体组型也和前两者相似，且三者的头骨特征相同（Neitzel，1979）。Ohtaishi（1992）根据染色体和角形以外的形态特征研究认为，坡鹿是从斑鹿属或水鹿的祖先中分化而来。这一观点在本研究构建的系

统树中也基本得到反映，仅在坡鹿的分类地位上有歧异。图1和表3的序列差异值表明，坡鹿是中国鹿属中最原始的种，与鹿属其他种的分歧时间在270~320万年；水鹿与白唇鹿、梅花鹿和马鹿的分歧时间在200~240万年；梅花鹿与马鹿的分歧时间在140~160万年。该结果支持鹿属在上新世末期（Terminal Pliocene）至更新世初期起源并逐步分化的结论（Flerov，1957；Wang & Du，1982）。

3.3 中国马鹿亚种的系统进化关系

马鹿在全世界共有21或22个亚种，种内差异最丰富，分布也最广——从北非西北部、欧洲、亚洲到北美都有广泛的分布。中国是世界上马鹿亚种最多的国家，主要分布在东北、西北、四川和青藏高原等地。已记录有8个亚种，分别是甘肃亚种（*C.e.kansuensis*）、西藏亚种 *C.e.wallichi*）、塔里木亚种（*C.e.yarkandensis*）、四川亚种（*C.e.macneilli*）、东北亚种（*C.e.xanthopygus*）、阿拉善亚种（*C.e.alasnanicus*）、天山亚种（*C.e.songaricus*）和阿尔泰亚种（*C.e.sibiricus*）。Li et al（1998）通过对Cyt *b* 基因5'序列片段的差异探讨了马鹿甘肃亚种、阿拉善亚种、东北亚种和天山亚种的起源和遗传分化问题。本研究利用Cyt *b* 基因全序列进一步分析了除阿拉善亚种和塔里木亚种以外，其余6个中国马鹿亚种的系统进化关系。

Randi et al（1998）对欧洲、亚洲和北美洲的马鹿亚种的Cyt *b* 基因全序列的分析表明：欧洲马鹿与亚洲及北美洲马鹿间的序列差异为5.2%~5.9%；亚洲和北美洲的马鹿间序列差异为1.4~2.1%。从表3可知，6个中国马鹿亚种的Cyt *b* 基因全序列差异在0.09%~1.75%，即中国马鹿的各亚种间DNA差异是处于亚种水平的分化。图1B的分子系统树显示，所有的马鹿亚种在系统发生上是单系群，是从梅花鹿中分化出来的。马鹿天山亚种和阿尔泰亚种聚为最原始的一支，与其他亚种的分化时间在57~67万年。西藏亚种、四川亚种和甘肃亚种的关系较近，聚为一支作为东北亚种的姐妹群，并与后者一同组成天山亚种+阿尔泰亚种的姐妹群。结合动物地理学研究分析可知，上述研究结果与马鹿是梅花鹿群通过中东向欧洲和北非扩展的过程中产生的一个新种，这种原始型马鹿在欧洲北上又反转回来，到更新世中期（Middle Pleistocene），经过天山北麓返回中国大陆，并逐渐在中国大陆由西向东逐渐分化扩散的理论一致（Sheng et al，1992；Li et al，1998；Li et al，2000）。

致谢：江苏省药品检验所曹琳老师提供了坡鹿和豚鹿样品，大连市药品检验所陈代贤老师提供了麋鹿茸样品，谨致谢忱！

参考文献：

Avise JC. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution [M]. New York: Chapman & Hall. 551.

Cronin MA. 1991. Mitochondrial-DNA phylogeny of deer (Cervidae) [J]. *J. Mammol.*, **72** (3): 553-556.

Emerson BC, Tate ML. 1993. Genetic analysis of evolutionary relationships among deer (subfamily Cervinae) [J]. *J. Hered.*, **84** (4): 266-273.

Felsenstein J. 1995. PHYLIP (Phylogenetic Inference Package) version 3.5c [CP]. Seattle: University of Washington.

Flerov KK. 1957. Morphology and ecology of Cervidae during its evolution [J]. *J. Paleontology Translation*, **1-2**: 2-16.

Groves CP, Grubb P. 1987. Relationships of living Cervidae [A]. In: Fennessy PF, Drew KR. The Biology of Deer Production [M]. Wellington: Royal Society of New Zealand. 3-11.

Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals [J]. *J. Mol. Evol.*, **32**: 128-144.

Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, et al. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**: 6196-6200.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, et al. 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software [CP]. Tempe, Arizona, USA: Arizona State University.

Li HP, Shi SK, Li S. 2000. Genetic diversity detected by RAPD in five velvet-deer breeds or strains of China [J]. *China J. Appl. Environ. Biol.*, **6** (3): 237-246. [李和平，师守堃，李生. 2000. 中国茸鹿品种（品系）的随机扩增态（RAPD）研究. 应用与环境生物学报，**6** (3): 237-246.]

Li M, Wang XM, Sheng HL, et al. 1998. Origin and genetic diversity of four subspecies of red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Zool. Res.*, **19** (3): 177-183. [李 明，王小明，盛和林，等. 1998. 马鹿四个亚种的起源和遗传分化研究. 动物学研究，**19** (3): 177-183.]

Li M, Wang XM, Sheng HL, et al. 1999. Mitochondrial DNA divergence and phylogeny of four species of deer of the genus *Cervus* [J]. *Acta Zool. Sin.*, **45** (1): 99-105. [李 明，王小明，盛和林，等. 1999. 四种鹿属动物的线粒体DNA差异和系统进化关系研究. 动物学报，**45** (1): 99-105.]

Meryer A, Wilson AC. 1990. Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish [J]. *J. Mol. Evol.*, **31**: 359-364.

Neitzel H. 1979. Chromosome evolution in der family der Hirsche (Cervidae) [J]. *Bongo, Berlin.*, **3**: 27-38.

Neitzel H. 1987. Chromosome evolution of Cervidae karyotypic and molecular aspects [A]. In: Obe G, Basler A. Cytogenetics [M]. Berlin: Springer-Verlag. 90-112.

Ohtaishi N. 1992. The origins and evolution of the deer in China [A]. In: Sheng HL, et al. The Deer in China [M]. Shanghai: East China Normal University Press. 8-16. [大泰司纪之. 1992. 中国鹿类的起源和分化. 见：盛和林，等. 中国鹿类动物. 上海：华东师范大学出版社. 8-16.]

Randi E, Mucci N, Pierpaoli M, et al. 1998. New phylogenetic perspectives on the Cervidae (Artiodactyla) are provided by the mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **265**: 793-801.

Randi E, Mucci N, Claro-Hergueta F, et al. 2001. A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: Speciation in *Cervus* and implications for conservation [J]. *Animal Conservation*, (4): 1-11.

Sheng HL, et al. 1992. The Deer in China [M]. Shanghai: East China Normal University Press. [盛和林，等. 1992. 中国鹿类动物. 上海：华东师范大学出版社.]

Swofford DL. 1993. PAUP3.1.1: Phylogenetic Analysis Using Parsimony [CP]. Champaign, Illinois, USA: Computer Program Distributed by the Illinois Natural History Survey.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, et al. 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [CP]. *Nucleic Acids Research*, **24**: 4876-4882.

Wang ZR, Du RF. 1982. Evolution of karyotype of the genus *Cervus* [J]. *Acta Genetica Sinica*, **9** (11): 24-31. [王宗仁，杜若甫. 1982. 鹿属动物的染色体组型及其进化. 遗传学报，**9** (11): 24-31.]

Wang ZR, Du RF. 1983. Evolution of karyotype of the family Cervidae [J]. *Acta Zool. Sin.*, **29** (3): 214-221. [王宗仁，杜若甫. 1983. 鹿科动物的染色体组型及其进化. 动物学报，**29** (3): 214-221.]

Wang ZR, Du RF. 1988. Karyotypes and chromosome evolution in deer [M]. Beijing: Scientific Publishing. 10. [王宗仁，杜若甫. 1988. 鹿的核型与染色体进化. 北京：科学出版社. 10.]

Zhou CQ. 2001. Studies on molecular systematics of Myospalacinae and molecular identification of bone of *Eospalax baileyi* [D]. Ph.D. thesis, Nanjing Normal University. 48-65. [周材权. 2001. 鼢鼠亚科 (Myospalacinae) 的分子系统学及中药材塞隆骨的分子鉴定研究. 博士论文，南京师范大学. 48-65.]